

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 60-156614
 (43)Date of publication of application : 16.08.1985

(51)Int.Cl.

A61K 31/35
 // C07D311/62

(21)Application number : 59-010980

(71)Applicant : MITSUI NORIN KK

(22)Date of filing : 26.01.1984

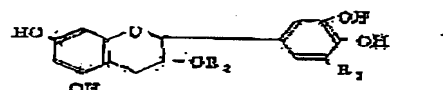
(72)Inventor : HARA MASAHIKO
 Ooya MAYUMI

(54) INHIBITOR FOR RISE IN CHOLESTEROL

(57)Abstract:

PURPOSE: An inhibitor for rise in cholesterol containing green tea catechin as an active constituent.

CONSTITUTION: An inhibitor for rise in cholesterol containing green tea catechin of formula I (R1 is H or OH; R2 is H or formula II) contained in green tea raw leaves or dried green tea of middle grade in an amount of about 10W25% as an active constituent. It is confirmed that the green tea catechin has powerful effect on only inhibition of rise in blood cholesterol but also inhibition of accumulation of lipid, particularly cholesterol, in the kidney. Preferably, the inhibitor is usually administered orally in about 2W5g daily dose.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

③ 日本国特許庁(JP)
④ 公開特許公報(A)

⑤ 特許出願公開
昭60-156614

⑥ Int. Cl.⁴
A 61 K 31/35
// C 07 D 311/62

識別記号 庁内整理番号
ADN 7330-4C
6640-4C

⑦ 公開 昭和60年(1985)8月16日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑧ 発明の名称 コレステロール上昇抑制剤

⑨ 特 願 昭59-10980

⑩ 出 願 昭59(1984)1月26日

⑪ 発 明 者 原 征 彦 静岡市駒形通5-11-8
⑫ 発 明 者 大 矢 真 弓 静岡市遠藤新田392-10
⑬ 出 願 人 三井農林株式会社 東京都中央区日本橋室町2丁目1番地1
⑭ 代 理 人 弁理士 久保田 藤郎

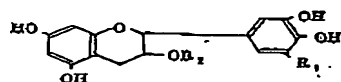
明 細 書

1. 発明の名称

コレステロール上昇抑制剤

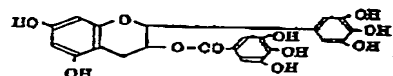
2. 特許請求の範囲

1. 一般式



(式中、R₁はHあるいはOHを、R₂はHあるいは
-CO-を示す。)で表わされる茶カテキン
類を有効成分とするコレステロール上昇抑制剤。

2. 茶カテキン類が式



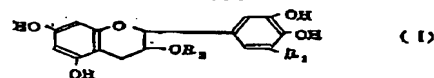
で表わされる(→)エピガロカテキンガレートである
特許請求の範囲第1項記載のコレステロール上昇
抑制剤。


3. 発明の詳細な説明

本発明はコレステロール上昇抑制剤に関する。
血中および肝臓中における脂質、特に血中コレ
ステロールの増加による血管老化に伴って惹起
される各種心臓疾患、脳疾患等は近年重大関心事
となつており、これらの発症を予防する薬剤の出
現が求められている。

本発明者らは茶カテキン類を製造する方法に関
し、既に茶葉中より効率的に茶カテキン類を採取
することに成功し、併せてその生理活性について
も研究を進め、いくつかの知見を得た。たとえば
ラードに対する抗酸化性、天然着色料に対する退
色防止効果、天然精油の劣化防止効果、魚翅産腐
敗の抑製効果、細菌類に対する防菌効果等である。
その後、さらに研究を続けた結果、茶カテキン
類がすぐれたコレステロール上昇抑制作用を有す
ることを見出し、本発明を完成するに至つた。

すなわち本発明は一般式




(式中、 R_1 はHあるいはOHを、 R_2 はHあるいは-OO-を示す。)で表わされる茶カテキン類を有効成分とするコレステロール上昇抑制剤である。

茶カテキン類とは、一般に茶タンニンと呼ばれているものの主成分であり、生茶葉あるいは煎茶乾燥物中に10~25%程度含まれ、茶の渋味乃至酸味を形成する成分である。なお、紅茶の場合はこれらカテキン類が酸化重合した形で存在している。

茶カテキン類は、本発明者らの開示した方法(特願第58-94069号、同58-120963号)によつて製造することができ、通常次の4種類に分類される。

(一)エピカテキン(式中、 $R_1=H$ 、 $R_2=H$)(以下、EGと略す。)

(二)エピガロカテキン(式中、 $R_1=OH$ 、 $R_2=H$)(以下、EGGと略す。)

(三)エピカテキンガレート(式中、 $R_1=H$ 、 $R_2=-OO-$ ) (以下、EGGと略す。)


15.0%、コレステロールを1.0%添加した対照群を第1群とし、これに対し、1.0%および2.0%粗カテキンを添加した群をそれぞれ第2群、第3群とする。飼料組成は第1表に示したとおりである。

飼育は、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度45~55%、6時より18時まで照明、18時より6時まで消灯の空調動物室で一匹ずつステンレス製懸垂飼育籠に入れ、飼料と水は自由に摂取させて4週間飼育し、その間の成長、飼料摂取量を調べた。飼料は粉末であり、目皿を有する肉厚ガラス製カップに入れて与えた。

4週間飼育後、12時間断食にし、あらかじめヘパリン(1000単位/kg体重)を添加した注射器を用いて心腔より採血し、遠心分離(3000rpm \times 20 min)してプラズマを得た。各臓器は重さを測定し、肝臓は湿熱乾燥後粉末化して実験に供した。

プラズマ中の成分のうちヘマトクリットは毛細管によるマイクロヘマトクリット法、ヘモグロビンはシアンメトヘモグロビン法、グルコースは酵素

特開60-158614(2)

(一)エピガロカテキンガレート(式中、 $R_1=OH$ 、 $R_2=-OO-$ ) (以下、EGGと略す。)

これら茶カテキン類のうちではEGGがほぼ半量を占める。これら茶カテキン類は水溶性であるが、予め少量のエタノールに溶解させることによつて容易に油類等と混合させることができる。

茶カテキン類が血中コレステロールの上昇を抑制するばかりでなく、肝臓中脂肪(特にコレステロール)の蓄積を抑制する強い効果を持っていることを以下の実験によつて確認した。なお、以下において粗カテキンとは上記4種類の茶カテキン類の混合物を意味する。

実験例1

1群6匹のwistar系雄雌乳ラット(3週令体重約40g)3群を用い、25%カゼインを含む基本飼料を与え3~4日間飼育し、体重55~60gに達したものを1匹ずつステンレス製懸垂飼育籠に移して実験に供した。

実験群は強制的に血中コレステロールを増加させるために、シユーグロースおよびラードを与え

法によつて測定した。総コレステロール量はSak-Benzy 変法により、トリグリセライドおよびFree-HDL、LDL-コレステロールは酵素法により測定した。

肝臓中脂肪はRoehm 法により抽出し、肝臓中コレステロールおよびトリグリセライドはプラズマと同様に測定した。

第1表 飼料組成

成分	組成(%)		
	第1群	第2群	第3群
カゼイン	25.0	25.0	25.0
α -デンプン	35.64	34.9	33.9
シユーグロース	15.0	15.0	15.0
ラード	15.0	15.0	15.0
コーン油	2.0	2.0	2.0
塩混合	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1	0.1
コレステロール	1.0	1.0	1.0
カフェイン	0.06	—	—
粗カテキン	—	1.0	2.0

特開昭60-156614(3)

第 3 表

	第 1 群	第 2 群	第 3 群
総脂質(%)	22.50 ± 1.16 ^{a)}	14.94 ± 0.62 ^{b)}	10.38 ± 0.21 ^{c)}
総トリグリセリド(%)	7.64 ± 5.4 ^{a)}	5.62 ± 3.3 ^{b)}	2.66 ± 2.0 ^{c)}
トリグリセリド(%) (% 肝臓)	77.6 ± 4.6 ^{a)}	59.8 ± 3.8 ^{b)}	33.3 ± 1.8 ^{c)}
総コレステロール(%)	28.3 ± 1.9 ^{a)}	21.3 ± 1.7 ^{b)}	14.9 ± 2.1 ^{c)}
コレステロール(%) (% 肝臓)	28.6 ± 1.1 ^{a)}	22.6 ± 1.7 ^{b)}	18.4 ± 1.9 ^{b)}

a), b), c) は $p = 0.05$ における有意差表示

プラズマにおいて、ヘマトクリット、グルコース値は 3 群とも正常値を示した。総コレステロール量は、対象群に対して粗カテキンを 1.0 %、2.0 % 添加することによってコレステロール上昇が抑制されていることがわかる。また、コレステロールの存在形態においては、Free- および HDL-コレステロール値に差はなく、体内へのコレステロール運搬に最も関与していると思われる LDL-コレステロール値が対象群では多いが、粗カテキン添加によって著しく抑制されている。

4 週間を通じて各群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第 2 表に、肝臓中成分の測定結果を第 3 表に示す。

第 2 表

	第 1 群	第 2 群	第 3 群
ヘマトクリット(%)	44.0 ± 1.0	45.0 ± 0.8	45.4 ± 0.5
グルコース(%) (% 肝臓)	155.6 ± 9.9	174.0 ± 10.6	145.2 ± 4.1
総コレステロール(%) (% 肝臓)	141.7 ± 9.5 ^{a)}	111.7 ± 3.5 ^{b)}	109.9 ± 6.0 ^{b)}
Free-コレステロール(%) (% 肝臓)	20.15 ± 2.51 ^{a)}	20.82 ± 1.38 ^{a)}	21.48 ± 1.78 ^{a)}
総コレステロール Free-コレステロール(%) (% 肝臓)	118.5 ± 7.8 ^{a)}	90.87 ± 4.06 ^{b)}	88.42 ± 4.84 ^{b)}
HDL-コレステロール(%) (% 肝臓)	46.89 ± 7.72 ^{a)}	47.06 ± 1.24 ^{a)}	49.02 ± 4.58 ^{a)}
LDL-コレステロール(%) (% 肝臓)	70.50 ± 4.85 ^{a)}	54.76 ± 3.21 ^{b)}	50.89 ± 2.19 ^{b)}

a), b) は $p = 0.05$ における有意差表示

肝臓中の総脂質の割合は、肝臓時重量に換算して対象群が 22.5 % と非常に高いのに対し、粗カテキン添加によって 14.9 %、10.4 % と顕著に低くなっている。トリグリセリド、コレステロール値においても粗カテキン添加によって対象群に比べて著しく低下した。

実験例 2

1 群 6 匹の Wistar 系雄乳ラット (3 週齢、体重約 40 g) 4 群を用い、実験例 1 と同様な条件下で 4 週間飼育し、実験に供した。

実験群は 2.5 % カゼインを含む基本飼料を与える基本食群を第 1 群とし、強制的に血中コレステロールを増加させるためにニュータロースおよびラードを各々 15.0 %、コレステロール 1.0 %、さらに Na コレート 0.2 % 添加した対象群を第 2 群とする。対象群に対し、EGOR を 0.5 % および 1.0 % 添加した群を第 3 群、第 4 群とする。飼料組成は第 4 表に示す。

第 4 表 飼料組成

成 分	第 1 群	第 2 群	第 3 群	第 4 群
カゼイン	25.0	25.0	25.0	25.0
α-アミノ	63.9	35.7	35.2	34.7
乳糖	—	15.0	15.0	15.0
ラード	—	15.0	15.0	15.0
コーン油	5.0	2.0	2.0	2.0
塩混合	5.0	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1	0.1	0.1
コレステロール	—	1.0	1.0	1.0
Na コレート	—	0.2	0.2	0.2
粗カテキン	—	—	—	—
EGOR	—	—	0.5	1.0

4 週間を通じて各群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第 5 表に、肝臓中成分の測定結果を第 6 表に示す。

第 5 表

	第 1 群	第 2 群	第 3 群	第 4 群
ヘマトクリット (%)	465±16	446±10	439±08	427±06
ヘモグロビン (g/dl)	1465±019	1323±010	1347±014	1324±018
グルコース (mg/dl)	1766±36 ^{a)}	1785±73 ^{a)}	1827±73 ^{a)}	1856±53 ^{a)}
総コレステロール (mg/dl)	9338±489 ^{a)}	2227±143 ^{b)}	1428±48 ^{c)}	1143±86 ^{a)}
Free-コレステロール (mg/dl)	2669±129	3967±172	2823±147	2357±129
総コレステロール- Free-コレステロール (mg/dl)	6658±373	1840±132	1146±42	9175±750
HDL-コレステロール (mg/dl)	5346±294 ^{a)}	2156±145 ^{b)}	3106±146 ^{c)}	2970±107 ^{d)}
LDL-コレステロール (mg/dl)	1130±081 ^{a)}	1636±105 ^{b)}	8527±460 ^{c)}	5394±483 ^{d)}
トリグリセリド (mg/dl)	1627±71 ^{a)}	9208±301 ^{b)}	7412±605 ^{b)}	7139±387 ^{b)}

a), b), c), d) は $p=0.05$ における有意差を示す

プラス 4 において、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよびグルコースは各群とも正常値を示した。総コレステロール値は、基本食群が 9.3 mg/dl であったのに対し、対象群は 22.4 mg/dl と増大しているが、0.5%、1.0% EGOs 添加によつて 14.3 mg/dl、11.4 mg/dl とコレステロールの増加を抑制した。特に 1.0% EGOs を添加した第 4 群は基本食群と有意な差はなく、強制的にコレステロール値を上昇させる食餌の形態を完全に抑制した。コレステロールの存在形態も、基本食群に対し対象群は HDL-コレステロールが少なく、LDL-コレステロールが多いが、これに対し第 3 群、第 4 群では HDL-コレステロールが多くなり LDL-コレステロールが少なくなった。

肝臓中の総脂質の割合は、肝割時直前に換算して基本群 5.2% に対し対象群は 33.0% と断じて増大したが、0.5%、1.0% EGOs 添加によつて 28.7%、24.0% と著しく減少した。トリグリセリド、コレステロール値においても、EGOs 添加によつて対象群に比べて増加を抑制した。

第 6 表

	第 1 群	第 2 群	第 3 群	第 4 群
総脂質 (%)	520±013 ^{a)}	9295±069 ^{b)}	2873±081 ^{c)}	2399±067 ^{d)}
トリグリセリド (%)	880±54 ^{a)}	1979±49 ^{b)}	154±88 ^{c)}	1046±77 ^{d)}
トリグリセリド (mg/dl)	117±06 ^{a)}	161±8 ^{b)}	128±3 ^{c)}	984±66 ^{d)}
総コレステロール (%)	362±15 ^{a)}	1318±81 ^{b)}	1072±30 ^{c)}	815 ^{c)}
コレステロール (mg/dl)	483±011 ^{a)}	106±3 ^{b)}	843±22 ^{c)}	714 ^{c)}

a), b), c), d) は $p=0.05$ における有意差を示す

同、実験例 1, 2 を通じて第 4 週目の途中脂質量を Food 法により測定したところ、いずれも対象群に比べ粗カチキンあるいは EGOs 添加群の方が大きな値を示した。

実験例 3

1 群 5 匹の Wistar 系雄産乳ラット (3 週令体重約 40 g) 2 群を用い、実験例 1 と同様な条件下で 4 週間飼育し、実験に供した。

実験例 1, 2 を通じて血中および肝臓中の脂質、特にコレステロールを強制的に増加させる飼料を与えても、粗カチキン、EGOs の添加によつてその増加を抑制することがわかった。しかし、コレステロールは細胞膜構成成分、各種ホルモン調節物質として重要であり、正常値に保つ必要がある。そこで、今回の実験では EGOs はコレステロール強制添加食に添加した時にはコレステロール値を下げるが、基本食に添加した時には影響しないことを確かめる。

従つて、実験群は 2.5% カゼインを含む基本飼料を与える基本食群を第 1 群とし、これに対して

1.0 % BGOs添加した群を第2群とする。飼料組成は第7表に示す。

成 分	第7表	
	第1群	第2群
カゼイン	25.0	25.0
α-デンプン	63.9	62.9
コーン油	5.0	5.0
塩混合	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1
BGOs	—	1.0

2週間を遡じて2群とも飼料摂取、成長共に正常であった。プラズマ中成分の測定結果を第8表に、肝臓中成分の測定結果を第9表に示す。



プラズマにおいて、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよびグルコースは2群とも正常値を示した。総コレステロールも基本食群が95 mg/dl、第2群が103 mg/dlと有意な差は見られず、その他の成分でも差は見られなかった。

肝臓中の総脂質の割合は、非断時重量に換算して基本食群(第1群)5.4%に対し、第2群も4.6%と有意な差はなく、コレステロール、トリグリセライドにおいても差はなかった。

以上の実験例1, 2および3によつて、茶カテキン類(特にBGOs)はラットに脂質、特にコレステロールを強制的に増加させる飼料を与えた時、血中および肝臓中の脂質、特にコレステロールの増加を顕著に抑制することがわかった。さらに、基本食を与えた時には、血中および肝臓中の脂質成分として必要なコレステロールに影響を与えないことも明らかとなった。

急性毒性試験の結果を以下に示す。

ICR系マウスに6週令にBGOsを経口投与した場合、1週間後のLD₅₀は2314 mg/kgであった。さら

特開昭60-156614(6)

第8表

	第1群	第2群
ヘマトクリット(%)	45.2±0.7 ^{a)}	44.4±0.5 ^{a)}
ヘモグロビン(g/dl)	14.07±0.12 ^{a)}	13.83±0.28 ^{a)}
グルコース(mg/dl)	186±5 ^{a)}	170±1 ^{a)}
総コレステロール(mg/dl)	95.1±4.1 ^{a)}	103.5±5.3 ^{a)}
Free-コレステロール(mg/dl)	30.2±1.7 ^{a)}	31.5±1.4 ^{a)}
LDL-コレステロール(mg/dl)	64.9±2.5 ^{a)}	72.0±4.2 ^{a)}
HDL-コレステロール(mg/dl)	55.6±2.9 ^{a)}	51.7±2.1 ^{a)}
LDL-コレステロール(mg/dl)	14.2±1.8 ^{a)}	17.2±1.4 ^{a)}
トリグリセライド(mg/dl)	164±22 ^{a)}	165±23 ^{a)}

a) は p=0.05 における有意差表示

第9表

	第1群	第2群
総脂質(%)	5.35±0.15 ^{a)}	4.58±0.05 ^{a)}
総トリグリセライド(mg)	91.6±8.7 ^{a)}	73.7±4.0 ^{a)}
トリグリセライド(mg/100g)	11.7±1.0 ^{a)}	8.9±0.8 ^{a)}
総コレステロール(mg)	35.4±1.4 ^{a)}	36.3±1.2 ^{a)}
コレステロール(mg/100g)	45.5±0.15 ^{a)}	43.6±0.07 ^{a)}

a) は p=0.05 における有意差表示

に、ICR系マウスに6週令にBGOsを腹腔投与した場合、1週間後のLD₅₀は150 mg/kgであった。

本発明のコレステロール上昇抑制剤を人体に投与する場合は、通常1日2〜5g程度を経口的に服用することが好ましく、そのままあるいは適宜希釈剤を加えて増量し散剤として服用してもよい。さらに、錠剤またはカプセル剤としてもよい。即ち乳剤、ぶどう糖等の賦形剤、でんぶん粉散、CMC液等の結合剤、でんぶん、結晶セルローズ等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤等を用いて錠剤またはカプセル剤を製造することができる。また、錠剤には必要に応じて包衣を施してもよい。

以下に製剤を実験例として示すが、製剤はこれのみに限定されるものではない。

実験例 錠剤

茶カテキンまたはBGOs	100mg
軽質無水ケイ酸	80mg
結晶セルローズ	140mg
乳糖	適量

ステアリン酸マグネシウム 2号

特許昭60-156614(6)

上記組成物を常法に従い1錠に成型する

特許出願人 三井物産株式会社

代理人 弁護士 久保田 康 郎

